

正常角膜内皮及びPolystyrene latex粒子貧食時の 角膜内皮のAcid phosphatase活性の組織化学的研究

著者	浅野 俊弘
号	1549
発行年	1984
URL	http://hdl.handle.net/10097/19640

氏 名 (本籍) あさ の とし ひろ
浅 野 俊 弘

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 5 4 9 号

学位授与年月日 昭 和 5 9 年 2 月 2 2 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最 終 学 歴 昭 和 5 2 年 3 月
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 正常角膜内皮及び Polystyrene latex 粒子貪食時
の角膜内皮の Acid phosphatase 活性の組織化学
的研究

(主 査)

論文審査委員 教授 水 野 勝 義 教授 森 富

教授 京 極 方 久

論 文 内 容 要 旨

角膜内皮は、角膜の最内層に位置し、通常一層の細胞層から成り立っており、その機能不全は角膜浮腫・混濁の主な原因となる。このように重要な角膜内皮が、前房内に異物が混入した場合にいかなる態度をとるかは興味ある問題である。角膜内皮細胞が *in vivo* で異物をどの程度貪食し、どのように対処してゆくのか、また、貪食に関係しているといわれる Lysosome の関与の有無についてはまだ知られていない。今回著者は、Lysosome 酵素のひとつである Acid phosphatase に着目し、その組織化学的研究を通じて上記の問題の解決を試みた。

Acid phosphatase 活性の組織化学的研究は、眼科領域においても網膜、水晶体、毛様体で行なわれており、角膜に関してはアゾ色素法を応用して光学顕微鏡レベルでの研究が行なわれた。そこで、まず、著者は家兎を用いて正常の角膜内皮の Acid phosphatase 活性を光学顕微鏡及び電子顕微鏡で組織化学的に検討した。金属塩法を用い、反応液としては Gomori の浸漬液つまり基質に β -グリセロリン酸、補捉剤に硝酸鉛を使った液を用いた。対照として、1) 反応液より基質をとり除き、代わりに等量の生理的食塩水を加えた液、及び 2) 反応液に阻害剤 NaF を混合した液を使用した。光学顕微鏡では、Gomori の浸漬液を使用した場合、角膜内皮細胞内に Acid phosphatase 活性が散見された。これに対し、対照群では Acid phosphatase 活性は認められなかった。電子顕微鏡では、Gomori の浸漬液を使用した場合、角膜内皮細胞内の Lysosome、ゴルジ装置に Acid phosphatase 活性が局在し、散布性に活性が認められる部位もあった。一方、対照群では Acid phosphatase 活性は認められなかった。この Acid phosphatase 活性の局在は、他の眼組織、他の臓器における活性の局在と一致していた。

病的条件下にない場合、角膜内皮細胞の異物貪食能はさほど大きくないと考えられており、培養角膜内皮細胞の貪食能は Trabecular endothelium のそれに比べて劣るとされた。しかし、今回家兎の前房内に大量の Polystyrene latex 粒子（以下 Latex 粒子と記載）を注入した時、角膜内皮細胞は大きな異物貪食能を発揮した。Latex 粒子は $0.5\mu\text{m}$ の大きさで遠心後 10% solids の状態にしたものを用いた。Acid phosphatase 活性の組織化学的検出法は、正常角膜内皮細胞の場合と同様にし、電子顕微鏡にて観察した。前房注入後 1 時間では、角膜内皮細胞内に多数の Latex 粒子がとり込まれており、その数は前房に近い部位で最も多く、デスメ膜に近い部位にも認められた。Latex 粒子貪食時の Acid phosphatase 活性をみると、前房に近い部位にとり込まれた Latex 粒子をとり囲む膜上に強く現われていた。このことから、前房内の Latex 粒子が内皮細胞にとり込まれると、特に前房に近い部位で Lysosome の作用を受け、Phagolysosome \rightarrow Digestive vacuole \rightarrow Residual body という過程をたどろうとすると考えられる。また、

Latex 粒子貪食時の角膜内皮の厚さは正常の 1.5 ～ 3 倍になっており、病的状況下にあることを物語っている。注入後 4 時間では、多数の Latex 粒子を貪食した角膜内皮細胞がその機能・形態を維持できなくなり、崩壊・脱落してくる。残っている角膜内皮細胞は少数の Latex 粒子を貪食した細胞であるが、大小の空胞がみられ、ミトコンドリアの減少が目立ち、機能低下が示唆される。このような細胞も周囲の細胞が多数脱落すると移動・拡大を余儀なくされ、その細胞自身の能力以上の働きを強要された時に崩壊・脱落してゆくと考えられる。注入後 24 時間では、この傾向はさらに顕著となり、崩壊・脱落する細胞の数がさらに増し、残った細胞内の空胞化も著しくなり、ミトコンドリアの数もますます減少してくる。注入後 4、24 時間後にみられる Acid phosphatase 活性は、散布性のものが大部分を占め、この種の酵素が角膜内皮細胞の自己融解にも関係している可能性を示している。なお、注入後 1、4、24 時間のいずれにおいても対照群では Acid phosphatase 活性がみられなかった。

以上より、in vivo で前房内に大量の Latex 粒子が注入された場合、角膜内皮細胞は大きな貪食能を発揮するが、あまりに多数の Latex 粒子を貪食するためにその機能・形態を維持できなくなって崩壊・脱落してゆくことが示された。また、Acid phosphatase 活性を組織化学的に検出することにより、角膜内皮細胞の異物貪食に Lysosome が関与していることが示された。

大量の異物が角膜内皮細胞に貪食される可能性を臨床面で人眼に求めると、Pigment dispersion syndrome におけるメラニン色素の貪食が確実視され、また Kayser - Fleischer ring における銅の貪食や Corneal blood staining における赤血球崩壊産物の貪食の可能性が考えられる。今回の実験で示された家兎における角膜内皮の貪食能の旺盛さは、病的状態にある人眼の角膜内皮の異物貪食能の可能性を裏付けるものである。

審 査 結 果 の 要 旨

角膜内皮は、前房から水分が角膜内へ流入するのを妨げる barrier としての働きと、ポンプ作用により Na^+ と Cl^- を房水中にくみ出して浸透圧のバランスを保ち角膜の dehydration を維持する働きがある。しかし、一方で、前房内に異物が存在する場合角膜内皮がこの異物を貪食する可能性が、Pigment dispersion syndrome, Kayser-Fleischer ring, Corneal blood staining で考えられている。そこで前房内に異物が混入した場合に角膜内皮がいかなる態度をとるか、そして一般に貪食に関係しているといわれる Lysosome の関与について in vivo で検討することが、この研究のテーマである。著者は、Lysosome 酵素のひとつである Acid phosphatase に着目し、その組織化学的研究を通じて上記の問題の解決を試みている。

まず、家兎の正常角膜内皮細胞について Gomori 法を用いて光学顕微鏡及び電子顕微鏡にて Acid phosphatase 活性を観察した。その結果、Acid phosphatase 活性は、Lysosome 及びその生成の場であるゴルジ装置に局在していた。この活性の局在は、角膜以外の眼組織、さらには全身の他の臓器でも確認されている。

次に、Polystyrene latex 粒子（以下 Latex 粒子と記載）を前房内に大量に注入した時に、角膜内皮細胞がどの程度の貪食能力を発揮するかを電子顕微鏡にて観察した。同時に、Latex 粒子貪食時の角膜内皮の Acid phosphatase 活性を組織化学的に検討した。注入後 1 時間では非常に多くの Latex 粒子が貪食されており、その数は前房に近い部位で多かった。Acid phosphatase 活性は、前房に近い部位に存在する Latex 粒子をとり囲む膜上で特に強く現われていた。このことから、前房内の Latex 粒子が内皮細胞にとり込まれると、特に前房に近い部位で Lysosome の作用を受け、Phagolysosome \rightarrow Digestive vacuole \rightarrow Residual body という過程をたどろうとすると考えられる。注入後 4 時間では、内皮細胞があまりに多数の Latex 粒子を貪食したために、その機能・形態を維持できなくなり、崩壊・脱落してゆく細胞が多くなると考えられる。残っている細胞は、少数の Latex 粒子を貪食した細胞であり、このような細胞も周囲の細胞が多数脱落してゆくために移動・拡大を余儀なくされ、その細胞自身の能力以上の働きを強要された時に崩壊してゆく。注入後 24 時間では、崩壊する細胞数がさらに増加している。注入後 4、24 時間では、Acid phosphatase 活性は散布性のものが多く、この種の酵素が内皮細胞の自己融解にも関係している可能性が示された。

以上のように、Latex 粒子の前房内大量注入という特殊な状況下ではあるものの、これまで報告されなかった角膜内皮細胞の異物貪食能を示し、またこの時に Lysosome が関与していることを示した本論文は、大変興味あるものであり、Pigment dispersion syndrome 等における角膜内皮の貪食能の可能性を支持するものであり学位論文に値するものである。